EnVision™ FLEX Mini Kit, High pH, (Link)

Código K8023

2ª edición

El kit contiene reactivos suficientes para 125–190 pruebas. Para instrumentos Autostainer Link.

Reactivos opcionales:

Código	Nombre del producto	Pruebas
K8004	EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x)	200-430
K8005	EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x)	200-430
K8006	EnVision™ FLEX Antibody Diluent	400-600
K8007	EnVision™ FLEX *Wash Buffer (20x)*	
K8008	EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Link)	400-600
K8009	EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER), (Link)	130-200
K8021	EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER), (Link)	130-200

Opciones adicionales

K8020	FLEX IHC Microscope Slides	500

Índice

Página

Uso previsto 3
Resumen y explicación 3
Reactivos 4
A. Material suministrado 4
B. Material necesario pero no suministrado 4
C. Reactivos opcionales 5
Precauciones 5
Almacenamiento 6
Preparación de los reactivos 7
Recopilación y preparación de las muestras 7
Procedimiento 8
A. Procedimiento previo al tratamiento 8
B. Procedimiento de tinción 9
Control de calidad 10
Interpretación de los resultados 10
Limitaciones 10
Explicación de los símbolos 11

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El sistema de detección Dako EnVision™ FLEX está diseñado para su uso en inmunohistoquímica junto con instrumentos Autostainer Link. El sistema detecta anticuerpos primarios de ratón y conejo, y la reacción se visualiza mediante el EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen. Si se utiliza con EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER) (código K8009) o EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) (código K8021), se puede conseguir la amplificación de la señal de los anticuerpos primarios de conejo o de los anticuerpos primarios de ratón, respectivamente. Los reactivos EnVision™ FLEX están diseñados para su uso en cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina.

Resumen y explicación

El sistema de detección Dako EnVision™ FLEX ha sido diseñado como un sistema flexible y proporciona una tinción óptima en los instrumentos Autostainer Link, cuando se emplea el protocolo recomendado en este folleto informativo.

Antes de proceder a la tinción, los cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina deben someterse a desparafinación y rehidratación seguidas de la recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) mediante el método de recuperación de dianas que se especifica en el folleto informativo del anticuerpo primario. Consulte también la preparación de la muestra 3 en 1 en la sección Procedimiento. El código K8023 incluye EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (DM828). Alternativamente, se recomienda EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (código K8004) o EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (código K8005). Algunos anticuerpos primarios requieren el pretratamiento enzimático del tejido para la tinción óptima en vez de HIER.

La peroxidasa endógena se debe bloquear con EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (SM801) incluido en este kit. Gracias a un procedimiento de lavado eficaz y a la presencia de proteínas estabilizantes en los reactivos de Dako, no son necesarios los pasos para llevar a cabo un bloqueo extra con el fin de reducir la tinción de fondo no específica.

Se recomienda EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (DM831) incluido en este kit o disponible como reactivo opcional (código K8007).

En el kit no se incluyen anticuerpos primarios. Se recomienda el uso de Dako FLEX Ready-to-Use Primary Antibodies o Dako concentrated Primary Antibodies. Se recomienda el uso de EnVision™ FLEX Antibody Diluent (código K8006) para la dilución de los Dako concentrated Primary Antibodies.

Puede aplicarse EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER) (código K8009) para obtener una amplificación de señal opcional de los anticuerpos primarios de conejo. Puede aplicarse para la amplificación de señales utilizando anticuerpos primarios de ratón, EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) (código K8021 o incluido en el código K8002). Como guía: EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER) proporciona una amplificación de señal de 2-3 veces y EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) proporciona una amplificación de señal de 4-5 veces.

El reactivo de detección Dako EnVision™ FLEX /HRP (SM802), que se incluye en el kit, se compone de un soporte principal de dextrano al que se han unido un gran número de moléculas de peroxidasa (HRP) y moléculas de anticuerpo secundario. Para la reacción de unión se ha utilizado una química única, que permite la unión de hasta 100 moléculas de HRP y hasta 20 moléculas de anticuerpo por soporte principal.

El sistema de sustrato que se incluye en el kit está compuesto por dos componentes: EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen (DM827), una solución de diaminobencidina (DAB) concentrada y EnVision™ FLEX Substrate Buffer (SM803), que contiene peróxido de hidrógeno. Antes de su uso, EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen se debe diluir en EnVision™ *FLEX* Substrate Buffer. El sistema de sustrato produce un producto final marrón claro en el lugar del antígeno diana.

Se recomienda EnVision™ FLEX Hematoxylin (código K8008) para la contratinción. El reactivo proporciona una tinción nuclear azul claro.

Las secciones de tejido con tinción se pueden montar con un medio de montaje acuoso o basado en disolvente orgánico.

Reactivos

A. Material suministrado

SM801 — EnVision™ FLEX PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT

EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent
1 x 40 mL, Tampón de fosfato
que contiene peróxido de hidrógeno, 15 mmol/L de NaN_3 y detergente, listo para su uso.

SM802 — EnVision™ FLEX /HRP

EnVision™ FLEX /HRP
1 x 40 mL, Dextrano unido
a moléculas de peroxidasa y moléculas de anticuerpo secundario de cabra contra inmunoglobulinas de conejo y ratón, listo para su uso. En solución tamponada que contiene proteína estabilizante y conservante.

DM827 — EnVision™ FLEX DAB+ CHROMOGEN

EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen
1 x 3 mL
Tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobencidina en disolvente orgánico.
El color de este reactivo puede variar. Puede ir de violeta fuerte a incoloro sin que esto afecte de ningún modo al rendimiento del kit.

SM803 — EnVision™ FLEX SUBSTRATE BUFFER

EnVision™ FLEX Substrate Buffer
5 x 20 mL
Solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno y conservante.

DM828 — EnVision™ FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION HIGH pH (50x)

EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x)
3 x 30 mL, Tampón Tris/EDTA
concentrado 50 veces, pH 9

DM831 — EnVision™ FLEX WASH BUFFER (20x)

EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x)
2 x 1 L, Solución salina
tamponada con Tris que contiene Tween 20, concentrada 20 veces, pH 7,6 (±0,1).

B. Material necesario pero no suministrado

Instrumento Autostainer Link

Dako PT Link

Dako Proteinase K, Ready-to-Use (si fuera necesario)

Dako FLEX Ready-to-Use Primary Antibodies o anticuerpos primarios concentrados de conejo o ratón diluidos adecuadamente de Dako

Dako FLEX Ready-to-Use Rabbit o Mouse Universal Negative Control o reactivo de control negativo adecuado para el anticuerpo primario.

Utensilios para instrumentación de Dako

Portaobjetos para microscopio (p. ej., FLEX IHC Microscope Slides)

Reactivos generales de laboratorio para desparafinación de cortes de tejidos incluidos en parafina

Medio de montaje (acuoso o basado en disolvente orgánico) y cubreobjetos

C. Reactivos opcionales

K8004
DM828

EnVision™ FLEX
TARGET RETRIEVAL SOLUTION
HIGH pH (50x)

EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x)
3 x 30 mL, Tampón Tris/EDTA
concentrado 50 veces, pH 9

K8005
DM829

EnVision™ FLEX
TARGET RETRIEVAL SOLUTION
LOW pH (50x)

EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x)
3 x 30 mL, Tampón de citrato
concentrado 50 veces, pH 6,1

K8006
DM830

EnVision™ FLEX
ANTIBODY DILUENT

EnVision™ FLEX Antibody Diluent
120 mL, Tampón Tris, pH 7,2
que contiene 15 mmol/L de NaN_3 y proteína, listo para su uso.

K8007
DM831

EnVision™ FLEX
WASH BUFFER (20x)

EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x)
1 L, Solución salina
tamponada con Tris que contiene Tween 20, concentrada 20 veces, pH 7,6 (±0,1).

K8008
SM806

EnVision™ FLEX
HEMATOXYLIN

EnVision™ FLEX Hematoxylin
3 x 45 mL, Solución acuosa de hematoxilina
lista para su uso

K8009
SM805

EnVision™ FLEX+
RABBIT (LINKER)

EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER)
40 mL, Solución tamponada
que contiene proteína estabilizante y un antibiótico, lista para su uso.
Contiene reactivo suficiente para 130-200 pruebas basado en el uso de 200–300 µL por prueba.

K8021
SM804

EnVision™ FLEX+
MOUSE (LINKER)

EnVision™ FLEX+, Mouse (LINKER)
40 mL, Solución tamponada
que contiene proteína estabilizante y un antibiótico, lista para su uso.
Contiene reactivo suficiente para 130-200 pruebas basado en el uso de 200–300 µL por prueba.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. EnVision™ FLEX /HRP, EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) y EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER) contienen material de origen animal y es posible que haya presente algún rastro de material humano debido a los procedimientos de fabricación. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
3. No exponga EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent, EnVision™ FLEX /HRP, EnVision™ FLEX Substrate Buffer, EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen, EnVision™ FLEX Substrate Working Solution o EnVision™ FLEX Hematoxylin a luz intensa durante el procedimiento.

4. Se encuentra disponible para los usuarios profesionales una hoja de datos de seguridad para EnVision™ FLEX *Target Retrieval Solution, High pH (50x) y* EnVision™ FLEX *Target Retrieval Solution, Low pH (50x)*.
5. Se encuentra disponible para los usuarios profesionales una hoja de datos de seguridad para EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x).
6. Se encuentra disponible para los usuarios profesionales una hoja de datos de seguridad para EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent.
7. EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen contiene 1–5% de tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobencidina, y está marcado como:
   Nocivo.
   R40 Posibles efectos cancerígenos.
   R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
   R68 Posibilidad de efectos irreversibles.
   S35 Elimínense los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
   S36/37 Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.
   Como regla general, los menores de 18 años no pueden manipular este producto.
   Debe informarse debidamente a los usuarios acerca del procedimiento adecuado de trabajo, las propiedades peligrosas del producto y las instrucciones de seguridad necesarias (según la Directiva 94/33/CE de la Unión Europea). Le rogamos que consulte la hoja de datos de seguridad (MSDS) para obtener información más detallada.

   EE. UU.: 3,3'-diaminobencidina (DAB) puede ser tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. El material es irritante para los ojos y la piel. En caso de contacto con la piel, enjuagar inmediatamente la zona afectada con agua y jabón.

   NOTA: Aunque la diaminobencidina está relacionada estructuralmente con la bencidina, no hay pruebas de la carcinogenicidad de la diaminobencidina. Consulte las normas nacionales, regionales o locales para la eliminación del producto.
8. EnVision™ FLEX Antibody Diluent (código K8006) contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. En la concentración en la que se encuentra en el producto, aunque no está clasificada como peligrosa, la azida sódica puede reaccionar con el cobre o el plomo de las cañerías para formar compuestos de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
9. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
10. La solución no utilizada debe desecharse con arreglo a las normativas locales, regionales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar los reactivos EnVision™ FLEX y EnVision™ FLEX+ a 2–8 °C.
Almacenar EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent, EnVision™ FLEX /HRP y EnVision™ FLEX Substrate Buffer en la oscuridad a 2–8 °C.
Almacenar EnVision™ FLEX Hematoxylin (código K8008) en la oscuridad a temperatura ambiente. No debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en los viales. Si los reactivos se almacenan bajo condiciones diferentes a las especificadas, dichas condiciones deben ser verificadas por el usuario. La solución Substrate Working Solution preparada se debe almacenar en la oscuridad a 2–8 °C y se debe utilizar en un plazo de 5 días. Si observa una tinción inesperada que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos del laboratorio y sospecha de la existencia de un problema con el producto, póngase en contacto con los servicios técnicos de Dako.

Preparación de los reactivos

A.1 EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (DM828, código K8004)

Diluya una cantidad suficiente de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) 1:50 con agua destilada o desionizada para el procedimiento de tinción planificado. Si se usa Dako PT Link en el pretratamiento, se puede realizar una dilución vaciando el contenido del vial de Target Retrieval Solution (50x) en el tanque de Dako PT Link y añadiendo agua destilada o desionizada hasta la línea marcada (línea de llenado). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2–8 ℃ durante un mes. Deseche la solución si está turbia. Cuando se utilice en el PT Link para el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1, la solución diluida puede utilizarse 3 veces en un período de 5 días, siempre que se conserve a temperatura ambiente.

A.2 EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (DM829, código K8005)

Diluya una cantidad suficiente de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) 1:50 con agua destilada o desionizada para el procedimiento de tinción planificado. Si se usa Dako PT Link en el pretratamiento, se puede realizar una dilución vaciando el contenido del vial de Target Retrieval Solution (50x) en el tanque de Dako PT Link y añadiendo agua destilada o desionizada hasta la línea marcada (línea de llenado). La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2–8 ℃ durante un mes. Deseche la solución si está turbia. Cuando se utilice en el PT Link para el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1, la solución diluida puede utilizarse 3 veces en un período de 5 días, siempre que se conserve a temperatura ambiente.

A.3 EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) (DM831, código K8007)

Diluya una cantidad suficiente de EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) 1:20 con agua destilada o desionizada para el procedimiento de tinción planificado. Diluya añadiendo el Wash Buffer concentrado a una cantidad medida previamente de agua destilada o desionizada para minimizar la formación de espuma. Mezcle suavemente hasta que la solución diluida tenga un aspecto homogéneo. La solución diluida no utilizada puede almacenarse a 2–8 ℃ durante un mes. Deseche la solución si está turbia. Cuando se utilice en el PT Link para el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1, la solución diluida puede utilizarse 3 veces en un período de 5 días, siempre que se conserve a temperatura ambiente.

A.4 EnVision™ FLEX Substrate Working Solution

La solución EnVision™ FLEX Substrate Working Solution que contiene DAB se prepara mezclando una gota de EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen (DM827) por 1 mL de EnVision™ FLEX Substrate Buffer (SM803). Use EnVision™ FLEX Substrate Working Solution en un plazo de 5 días (almacenar en la oscuridad a 2–8 °C).

Recopilación y preparación de las muestras

Las muestras deben ser cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina.

El tiempo de fijación depende del fijador y el tipo/grosor del tejido. Por ejemplo, los bloques de tejido con un grosor de 3–4 mm deben fijarse con formol tamponado neutro durante 18–24 horas.

El grosor adecuado de los cortes incluidos en parafina es de unos 4 µm.

Las muestras deben montarse en portaobjetos para microscopio, p. ej., FLEX IHC Microscope Slides (código K8020). Los cortes deben montarse en los portaobjetos lo más planos y estirados que sea posible. Si están demasiado arrugados, influirán negativamente en los resultados de la tinción.

NOTA: Los portaobjetos para microscopio deben tener un ancho adecuado para el Instrumento Autostainer Link. Consulte el Manual del usuario del instrumento de Dako específico para obtener información sobre los portaobjetos para microscopio que se pueden utilizar.

Los cortes incluidos en parafina deben montarse desde un baño María precalentado que contenga agua destilada o desionizada. El baño María no debe contener aditivos (como gelatina, poli-L-lisina, etc.). Los cortes deben secarse mediante calor, generalmente a una temperatura no superior a 60 ℃ durante 60 minutos como máximo. Con el fin de asegurar una adherencia adecuada de los cortes a los portaobjetos, es importante secar el agua de debajo de los cortes antes del proceso de secado en el horno.

Procedimiento

Los instrumentos Autostainer Link utilizan técnicas basadas en diferentes principios para obtener resultados de tinción óptimos. Antes de ejecutar protocolos en su Instrumento Autostainer Link, lea detenidamente el **Manual del usuario del instrumento Dako correspondiente**.

A fin de asegurar la recuperación del epítopo reproducible, se recomienda cargar siempre el soporte para portaobjetos completamente con portaobjetos. Con esto se garantiza un calentamiento idéntico de los cortes en cada ciclo.

A. Procedimiento previo al tratamiento

Procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 recomendado al utilizar PT Link:

La desparafinación, la rehidratación y la recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) se pueden realizar con cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina usando el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1:

1. Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (50x) 1:50 en agua destilada o desionizada.
2. Llene los tanques PT Link con cantidad suficiente (1,5 L) de solución de trabajo como para cubrir los cortes de tejido.
3. Fije el PT Link de forma que precaliente la solución a 65 °C.
4. Sumerja los cortes de tejido montados, fijados con formol e incluidos en parafina en la solución de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (solución de trabajo) precalentada en los tanques PT Link e incube durante 20 minutos a 97 °C.
5. Deje que los cortes se enfríen en el PT Link hasta 65 °C.
6. Extraiga cada gradilla para portaobjetos Autostainer con los portaobjetos del tanque PT Link e introdúzcalos inmediatamente en un bote o tanque (p. ej., PT Link Rinse Station, código PT109) con EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x), diluido y a temperatura ambiente.
7. Deje los portaobjetos en EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) diluido y a temperatura ambiente entre 1 y 5 minutos.
8. Coloque los portaobjetos en un instrumento Autostainer Link y proceda a la tinción. Los cortes no deben secarse durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica.
9. Tras la tinción, se recomienda realizar la deshidratación, la depuración y el montaje permanente.

   NOTA: Cuando se utilice en el PT Link para el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1, la Target Retrieval Solution diluida y el Wash Buffer diluido pueden utilizarse 3 veces en un período de 5 días, siempre que se conserven a temperatura ambiente.

Procedimiento HIER utilizando el PT Link:

Tras los procesos de desparafinación y rehidratación del tampón (agua), la mayoría de los cortes de tejidos debe someterse a recuperación del epítopo inducida por calor (HIER):

1. Prepare una solución de trabajo diluyendo el concentrado de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (50x) 1:50 en agua destilada o desionizada.
2. Llene los tanques PT Link con cantidad suficiente (1,5 L) de solución de trabajo como para cubrir los cortes de tejido.
3. Fije el PT Link de forma que precaliente la solución a 65 °C.
4. Desparafinice y rehidrate manualmente los cortes de tejido montados en portaobjetos de vidrio.
5. Sumerja los cortes de tejido a temperatura ambiente en EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (solución de trabajo) precalentada e incube durante 20 minutos a 97 °C.
6. Deje que los cortes se enfríen en el PT Link hasta 65 °C.
7. Extraiga cada gradilla para portaobjetos del tanque PT Link e introduzca los portaobjetos inmediatamente en un bote o tanque (p. ej., PT Link Rinse Station, código PT109) con EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x), diluido y a temperatura ambiente.
8. Deje los portaobjetos en EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) diluido y a temperatura ambiente entre 1 y 5 minutos.

9. Coloque los portaobjetos en un instrumento Autostainer Link y proceda a la tinción. Los cortes no deben secarse durante el tratamiento ni durante el procedimiento de tinción inmunohistoquímica.
10. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

    NOTA: Cuando se utilice en el PT Link para el procedimiento HIER, la Target Retrieval Solution diluida y el Wash Buffer diluido pueden utilizarse 3 veces en un período de 5 días, siempre que se conserven a temperatura ambiente.

Procedimiento HIER utilizando recipientes de Coplin:

Tras los procesos de desparafinación y rehidratación del tampón (agua), la mayoría de los cortes de tejidos debe someterse a recuperación del epítopo inducida por calor (HIER).

1. Coloque los recipientes de tinción con la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (50x) diluida en un baño de agua.
2. Caliente el baño María y los recipientes llenos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (solución de trabajo) hasta 95–99 ℃. Tape los reci pientes para estabilizar la temperatura y evitar la evaporación.
3. Sumerja los cortes a temperatura ambiente en la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (solución de trabajo) precalentada en los recipientes de tinción.
4. Lleve la temperatura del baño María y la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution hasta 95–99 ℃. Incube durante 20 (±1) minutos a 95–99 ℃ .
5. Retire el recipiente con los portaobjetos del baño María. Deje que los portaobjetos se enfríen en la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution durante 20 (±1) minutos a temperatura ambiente.
6. Decante la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution y enjuague los cortes con EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) diluido a temperatura ambiente entre 1 y 5 minutos.
7. Coloque la gradilla con los cortes enjuagados sobre un instrumento Autostainer Link. Empiece inmediatamente el ciclo de tinción preprogramado.

    NOTA: Cuando se utilice en recipientes de Coplin para el procedimiento HIER, la Target Retrieval Solution diluida y el Wash Buffer diluido pueden utilizarse 1 sola vez (un solo uso).

Algunos epítopos no toleran la HIER y algunos requieren un pretratamiento enzimático. Consulte el folleto informativo del anticuerpo primario de Dako correspondiente.

Los cortes de tejido no deben secarse durante el tratamiento o durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para aumentar la adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda utilizar FLEX IHC Microscope Slides (código K8020).

B. Procedimiento de tinción

Los Dako FLEX Ready-to-Use Primary Antibodies se pueden utilizar con el sistema de detección Dako EnVision™ FLEX, aplicado en cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina.

En el folleto informativo del anticuerpo primario concentrado encontrará una guía sobre dilución de los anticuerpos primarios concentrados de Dako.

Los anticuerpos primarios concentrados se deben diluir en EnVision™ FLEX Antibody Diluent (DM830, código K8006).

Los pasos de tinción y los tiempos de incubación recomendados han sido preprogramados en el software del Autostainer Link como los siguientes protocolos del sistema de visualización:

FLEX *y* FLEX 2x5 DAB (protocolos FLEX*)*

FLEX+ Mouse y FLEX+ Mouse 2x5 DAB (protocolos FLEX+ *Mouse (LINKER))*

FLEX+ Rabbit y FLEX+ Rabbit 2x5 DAB (protocolos FLEX+ *Rabbit (LINKER))*

El volumen de aplicación del reactivo recomendado es de 1 x 200 µL o 2 x 150 µL por portaobjetos. Si todavía no están disponibles los protocolos sobre el instrumento Autostainer Link utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Los tiempos de incubación óptimos del anticuerpo primario y del EnVision™ FLEX /HRP dependen del anticuerpo primario aplicado. Consulte el folleto informativo del anticuerpo primario de Dako correspondiente. El usuario deberá verificar el protocolo aplicado.

Una vez completado el procedimiento de tinción, se deben montar las muestras. Se recomienda realizar la deshidratación, la depuración y el montaje permanente siempre que los portaobjetos se hayan tratado con el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1. Los portaobjetos tratados con el procedimiento HIER pueden montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente. Si se utilizan medios de montaje acuosos, se recomienda utilizar medios como Dako Glycergel™ Mounting Medium (código C0563) o Faramount Aqueous Mounting Medium (código S3025).

Control de calidad

Cada sesión de tinción debe incluir una muestra de control positivo conocido con el fin de asegurar un rendimiento correcto de todos los reactivos aplicados. Si la muestra de control positivo no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras deberán considerarse como no válidos.

Se debe utilizar un reactivo de control negativo con cada muestra para identificar cualquier tinción no específica. Si las tinciones no específicas no se pueden diferenciar claramente de las tinciones específicas, los resultados de las muestras deberán considerarse como no válidos.

Interpretación de los resultados

La solución Substrate Working Solution que contiene diaminobencidina proporciona un color marrón en el lugar del antígeno diana reconocido por el anticuerpo primario. El color marrón debe estar presente en la muestra de control positivo en la ubicación esperada del antígeno diana. Si hay tinción inespecífica, se reconocerá como una tinción bastante difusa de color marrón en los portaobjetos tratados con el reactivo de control negativo. Los núcleos se teñirán de color azul gracias a la contratinción con hematoxilina.

Limitaciones

1. Para uso automatizado sólo en instrumentos Autostainer Link. Cuando se realizan tinciones manuales, el usuario debe determinar y verificar el procedimiento óptimo, a menos que se especifique en el folleto informativo del anticuerpo primario Dako específico.
2. Para uso exclusivo con cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Cuando se utilizan cortes congelados o frotis de células, el usuario debe determinar y verificar el procedimiento óptimo, a menos que se especifique en el folleto informativo del anticuerpo primario Dako específico. Los cambios en el procedimiento pueden influir en el número de pruebas suministradas en el kit.

Explicación de los símbolos

REF Referencia	Limitación de temperatura	LOT Código del lote	Nocivo
IVD Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Almacenar en la oscuridad	Fecha de caducidad	
Consulte las instrucciones de uso	Contiene suficiente para <n> ensayos	Fabricante	

Los sistemas de Dako EnVision™ están cubiertos por la patente estadounidense 5,543,332 y por la patente europea 594,772.

Producido por:
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup
Dinamarca
Tel. +45 44 85 95 00
Fax +45 44 85 95 95